

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(2)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許公開番号

特開平10-147541

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月2日

(51) Int. Cl.

A 61 K 47/48
31/715
31/74

識別記号

AD Z

F 1

A 61 K 47/48
31/715
31/74

Z

AD Z

審査請求 未請求 請求項の数33 のL (全 9 頁)

(21) 出願番号

特願平8-308083

(22) 出願日

平成8年(1996) 11月19日

(71) 出願人

000003159

東レ株式会社

東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号

(72) 発明者

福山 真弓

滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社滋賀事業場内

(72) 発明者

三和 敬史

滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社滋賀事業場内

(72) 発明者

福井 ルミ子

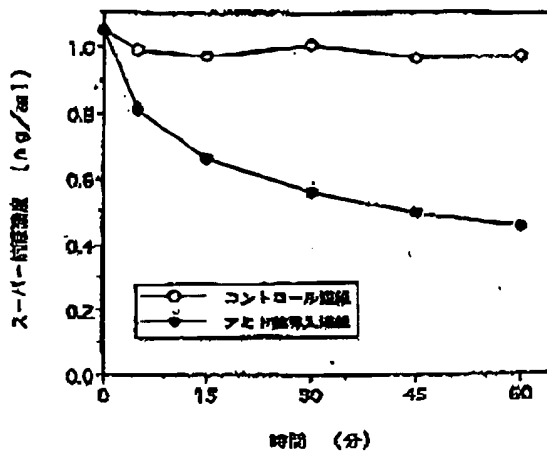
滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社滋賀事業場内

(54) 【発明の名称】 スーパー抗原除去用あるいは解毒用の材料

(37) 【要約】

【課題】 中塩領域の高蛋白質濃度溶液中においてもスーパー抗原との選択的結合性に優れ、滅菌が可能で、かつ安価である水素結合形成可能な基を含む材料を提供することを課題とする。さらに、該材料を用いたスーパー抗原除去用あるいは解毒用の材料、特にスーパー抗原除去用の体液浄化カラムおよびスーパー抗原吸着性の創傷被覆材料を提供することを課題とする。

【解決手段】 水素結合形成可能な基（但し、尿素結合およびチオ尿素結合を除く）を少なくとも一つ有することを特徴とするスーパー抗原除去用あるいは解毒用の材料を作製した。



(2)

特開平10-147541

1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】 水素結合形成可能な基を少なくとも一つ有することを特徴とするスーパー抗原除去用あるいは解毒用の材料。

【請求項2】 該水素結合形成可能な基を二つ以上有することを特徴とする請求項1記載の材料。

【請求項3】 異なる該水素結合形成可能な基を有することを特徴とする請求項2記載の材料。

【請求項4】 該水素結合形成可能な基の少なくとも一つがアミド結合であることを特徴とする請求項1記載の材料。

【請求項5】 該水素結合形成可能な基として、さらにアミノ基を少なくとも一つ有することを特徴とする請求項4記載の材料。

【請求項6】 該アミノ基が2級あるいは3級であることを特徴とする請求項5記載の材料。

【請求項7】 該アミノ基がボリアミンであることを特徴とする請求項6記載の材料。

【請求項8】 該水素結合形成可能な基として、さらに水酸基を少なくとも一つ有することを特徴とする請求項4記載の材料。

【請求項9】 該水酸基が糖質の水酸基であることを特徴とする請求項8記載の材料。

【請求項10】 該糖質がキトサン、セルロースおよびそれらの誘導体から選ばれることを特徴とする請求項9記載の材料。

【請求項11】 芳香族環を有することを特徴とする請求項1記載の材料。

【請求項12】 基材を含むことを特徴とする請求項1記載の材料。

【請求項13】 該基材がポリスチレン、ポリスルホン、ポリメチルメタクリレートおよびそれらの誘導体から選ばれることを特徴とする請求項12記載の材料。

【請求項14】 該基材が繊維であることを特徴とする請求項12記載の材料。

【請求項15】 該繊維が海鳥型の繊維であることを特徴とする請求項14記載の材料。

【請求項16】 水不溶性であることを特徴とする請求項1記載の材料。

【請求項17】 敗血症治療用であることを特徴とする請求項1記載の材料。

【請求項18】 請求項1～17のいずれかに記載の材料を用いた体液浄化カラム。

【請求項19】 請求項1～17のいずれかに記載の材料を用いた創傷被覆材料。

【請求項20】 水素結合形成可能な基を少なくとも一つを有する除去あるいは解毒用の材料を充填したカラムにスーパー抗原を含む液体を通過させることによってスーパー抗原を液体から除去する方法。

【請求項21】 液体が血液、血漿および血清から選ばれ

ることを特徴とする請求項20記載のスーパー抗原を除去する方法。

【請求項22】 該材料が該水素結合形成可能な基を二つ以上有することを特徴とする請求項20記載の方法。

【請求項23】 該材料が異なる該水素結合形成可能な基を有することを特徴とする請求項22記載の方法。

【請求項24】 該材料の該水素結合形成可能な基の少なくとも一つがアミド基であることを特徴とする請求項20記載の方法。

【請求項25】 該材料の該水素結合形成可能な基としてさらにアミノ基を少なくとも一つ有することを特徴とする請求項24記載の方法。

【請求項26】 該材料の該水素結合形成可能な基としてさらに水酸基を少なくとも一つ有することを特徴とする請求項24記載の方法。

【請求項27】 該材料が芳香族環を有することを特徴とする請求項20記載の方法。

【請求項28】 基材を含むことを特徴とする請求項20記載の方法。

【請求項29】 該基材がポリスチレン、ポリスルホン、ポリメチルメタクリレートおよびそれらの誘導体から選ばれることを特徴とする請求項28記載の方法。

【請求項30】 該基材が繊維であることを特徴とする請求項28記載の方法。

【請求項31】 該繊維が海鳥型の繊維であることを特徴とする請求項28記載の方法。

【請求項32】 水不溶性であることを特徴とする請求項20記載の方法。

【請求項33】 敗血症治療用であることを特徴とする請求項20記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、黄熱ブドウ球菌外毒素や連鎖球菌外毒素等のスーパー抗原を解毒あるいは除去する材料に関するものである。特にヒト血液中等の高濃度の蛋白質溶液中に存在するスーパー抗原と結合することによってスーパー抗原の毒性を失わせる（解毒）薬剤として、スーパー抗原を除去する併化カラムあるいは創傷被覆材料として、あるいはスーパー抗原を抽出あるいは定量化する測定材料として好適に用いられる。

【0002】

【従来の技術】 スーパー抗原とは、従来の抗原と異なり、抗原提示細胞内におけるプロセッシング過程を経ることなく、抗原提示細胞上の主要組織適合性抗原クラスII蛋白質（以下、「MHCクラスII」と言うことがある）に直接結合し、さらにはこのMHCクラスIIおよびT細胞と複合体を形成することにより、特定のVβ領域を有するT細胞を活性化させる一群の蛋白質である。従来の抗原ではT細胞との結合には多くの制約があるため、これに反応するT細胞の数は通常1万個に1個以下

(3)

特開平10-147541

3

であるが、スーパー抗原ではT細胞のV β 領域のみに結合するため、ある種のスーパー抗原は5個のうち1個のT細胞を活性化させる。この結果、スーパー抗原は免疫系を異常に活性化させ、敗血症、発熱、発疹、血圧低下や中毒時の嘔吐あるいは自己免疫疾患等を引き起こすと考えられている (D.L.Murrayら American Society of Microbiology News, 61(5) p229 (1995))。スーパー抗原としては黄色ブドウ球菌外毒素や連鎖球菌外毒素、エルシニア菌外毒素、あるいはある種のウイルス蛋白質やヒートショック蛋白質が確認されているが、今後も特

定化されていく可能性がある。
【0003】これまで、これらスーパー抗原と親和性のある物質としては、スーパー抗原に対する抗体 (P.M.Rostenら Journal of Clinical Microbiology 25(2) p327 (1987))、主要組織適合性抗原クラスII蛋白質およびその一部 (J.K.Russell et al. Biochemical and Biophysical Research Communications 168 p696 (1990))、イオン交換樹脂 (H.Togashiら Infection and Immunity 44(2) p175 (1984)) 等が知られており、血液や培養液上清中のスーパー抗原を吸着する結合物質として用いられてきた。しかし、これら結合物質の多くは蛋白質あるいはペプチドであり、高価である、滅菌により失活しやすい等の欠点を有していた。また、イオン交換樹脂とスーパー抗原の親和性は溶液のpHの影響を受けやすく、中性領域においては特異性が低くなる。このため、血液や食品等pHを中性に保つ必要がある高蛋白質濃度の溶液中でスーパー抗原と十分な親和性を有する材料としては不相当であった。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明はこれら従来技術の欠点を解消しようとするものであり、中性領域の高蛋白質濃度の溶液中においてもスーパー抗原との選択的親和性に優れ、滅菌が可能で、かつ安価である材料を提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは以前に尿素結合あるいはチオ尿素結合を含む材料が黄色ブドウ球菌外毒素等のスーパー抗原と親和性を有することを見出したが、さらに鋭意検討した結果、尿素結合およびチオ尿素結合以外の水素結合形成可能な基を有する材料にもスーパー抗原との親和性があることを見出し、本発明に至った。すなわち、本発明の第一の要件は水素結合形成可能な基 (尿素結合およびチオ尿素結合を除く) を含むことを特徴とする、スーパー抗原を除去あるいは解毒するための材料である。また、本発明の第二の要件は上述した材料を用いた体液浄化カラムあるいは創傷被覆材料である。

【0006】

【発明の実施の形態】すなわち、本発明材料はスーパー抗原と高い親和性を有するため、血液、尿などの体液や

4

食料品、飲料物中、医薬品中に存在するスーパー抗原と結合することができる。この結合により、例えば、スーパー抗原の3次元構造などの性質を変化させること、あるいはMHCクラスIIあるいは/およびT細胞との結合部位を遮蔽すること等によって、スーパー抗原に毒素としての活性を失わせる (解毒) ことができる。すなわち、本発明材料を医薬品として用いれば、食中毒、敗血症や自己免疫疾患の治療や発症の予防が可能になる。また、この材料が水不溶性であるならば、これを用いて、血液、尿などの体液や食料品、飲料物中、医薬品中からスーパー抗原を除去することが可能となり、食中毒、敗血症や自己免疫疾患の治療や発症の予防が可能になる。特に、スーパー抗原除去用の体液浄化カラムおよびスーパー抗原吸着性の創傷被覆材料として好適である。また、スーパー抗原を検出あるいは定量する測定材料として用いれば、食中毒、敗血症や自己免疫疾患の診断が可能となる。本発明はこのような疾患の診断や治療、および発症の予防を可能とする材料を提供するものである。

【0007】本発明においては、水素結合形成可能な基を少なくとも1つ含むことが必要である。但し、尿素結合あるいはチオ尿素結合以外の水素結合を少なくとも1つ有していることが必要であって、その場合に尿素結合あるいはチオ尿素結合を含んでいてもよい。水素結合形成可能な基として具体的に限定はなく、例えば、アミド基、アミノ基、水酸基、カルボキシル基、アルデヒド基、メルカプト基などが挙げられるが、アミド基を少なくとも一つ有することがより好ましい。水素結合形成可能な基に続く構造としては特に限定はなく、プロパン、ヘキサン、オクタン、ドデカンなどの脂肪族化合物やシクロヘキサン、シクロペンタンのような脂環族化合物を用いることができるが、親和性の高さを考慮するとベンゼン、ナフタレン、アントラセン等の芳香族化合物がより好ましく用いられる。プロパヘプタン、クロロシクロヘキサン、メチルベンゼン、クロロベンゼン、ニトロベンゼン、ジフェニルメタン、クロロナフタレン等の誘導体も好適に用いられる。また、水素結合形成可能な基を二つ以上有することがより好ましく、この場合、水素結合形成可能な基は同じものでも異なるものでもよい。特にアミド基に続く構造として例えば、アミノ基、水酸基、カルボキシル基等を有する構造が好ましく用いられる。例えばアミノ基を有する構造としては、アミノヘキサン、モノメチルアミノヘキサン、ジメチルアミノヘキサン、アミノオクタン、アミノドデカン、アミノジフェニルメタン、1-(3-アミノプロピル)イミダゾール、3-アミノ-1-プロパン、アミノピリジン、アミノベンゼンスルホン酸、トリス(2-アミノエチル)アミン等や、より好ましくは、ジアミノエタン、ジエチレントリアミン、トリエチレントトラミン、チトラエチレントペンタミン、ジプロピレントリアミン、ポリエチレンジアミン、N'-メチル-2,2'-ジアミノジエチルア

(4)

特開平10-147541

5

ミン、N-アセチルエチレンジアミン、1,2-ビス(2-アミノエトキシエタン)等のようなアミノ基を複数有する化合物(ポリアミン)が用いられる。また、水酸基を有する構造としては、ヒドロキシプロパン、2-エタノールアミン、1,3-ジアミノ-2-ヒドロキシプロパン、ヒドロキシブタン、ヒドロキシ酪酸、ヒドロキシピリジン等や、グルコース、グルコサミン、ガラクトサミン、マルトース、セルビオース、スクロース、アガロース、セルロース、キチン、キトサン等の多糖、オリゴ糖、多糖等の糖質あるいはそれらの誘導体を用いることができる。さらに、カルボキシル基を有する構造としては例えば、 β -アラニン、 γ -カプロン酸、イソ酪酸、 γ -アミノ- β -ヒドロキシ酪酸等を用いることができる。最も好ましくは、本発明材料はアミド基に続く構造として芳香族化合物と水素結合形成可能な化合物の両方を有することができる。

【0008】さらに、アミド基を分子構造内に複数個有するようなポリアミドも本発明材料として用いることができる。この場合にも、アミド結合に続く構造として上記構造のいずれをも用いることができるが、最も好ましくは、水酸基、アミノ基やカルボキシル基を有する化合物(糖質あるいはその誘導体を含む)のような水素結合形成可能な基と芳香族化合物の両方を用いることができる。

【0009】また、本発明材料としては、モノマ、オリゴマ、ポリマのいずれでも良いため、上記構造あるいはその一部が重合されているものも本発明材料に含まれる。すなわち、上記構造あるいはその一部として、ナイロン、ポリメチルメタクリレート、ポリスルホン、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリビニルアルコール、ポリテトラフルオロエチレンなどの合成高分子や、セルロース、コラーゲン、キチン、キトサンおよびそれらの誘導体を含む天然高分子などの繰り返し単位が好適に用いられる。つまり、単独重合、共重合あるいはブレンドされたこれらの合成高分子や天然高分子などに、水素結合形成可能な基を導入することが好適に行われる。さらに、金属、セラミックス、ガラスなどの無機材料を基材として適当な高分子で被覆したものも好適に用いられる。特にポリスチレン、ポリスルホン、ポリメチルメタクリレート等は、表面修飾が容易に行えるため、好ましく用いられる。また、ポリスチレン/ポリプロピレン無機繊維は、ポリスチレンの繊維のしやすさと、ポリプロピレンによる強度補強による扱い易さを持つためより好ましい。

【0010】本発明材料は一般に公知の方法で合成することができる。例えば脂肪族化合物や芳香族化合物にアミド基を導入する場合には、酸塩化物あるいは酸無水物とアミノ化合物とを反応させる方法を用いることができる。また、酸とアミノ化合物をカルボジイミドのような縮合剤存在下で反応させることも可能である。アミノ化

6

合物と酸塩化物あるいは酸無水物の混合比は任意に選択でき、通常、酸塩化物あるいは酸無水物1モルに対して0.1~5モルのアミノ化合物が好ましく用いられる。酸塩化物としては例えば、イソバレリルクロライド、ステアロイルクロライド、シクロヘキサノールカルボニルクロライド、6-クロロニコチン酸クロライド等の脂肪族酸塩化物のいずれをも用いることができるが、より好ましくはベンゾイルクロライド、3,4-ジクロロベンゾイルクロライド、ニトロベンゾイルクロライド、4-クロロベンゾイルクロライド、4-トルオイルクロライド、ベンゾ-〔b〕チオフェン-2-カルボニルクロライド等の芳香族酸塩化物を用いることができる。また、酸無水物としては例えば、無水酢酸、無水コハク酸、無水フタル酸等を好ましく用いることができる。また、本発明に用いるアミノ化合物のアミノ基としては1級アミノ基、2級アミノ基、3級アミノ基のいずれでも良く、アミノ化合物としては例えば、アンモニア、sec-オクチルアミン、1-(3-アミノプロピル)イミダゾール、3-アミノ-1-プロペン、アミノピリジン、アミノベンゼンスルホン酸、トリス(2-アミノエチル)アミン等を好ましく用いることができる。また、アミド基に加えて水素結合形成可能な基を導入できるような、ポリアミノ化合物や水酸基あるいはカルボキシル基を有するアミノ化合物も好ましく用いることができる。ポリアミノ化合物としては例えば、ジアミノエタン、ジエチレントリアミン、トリエチレントトラミン、テトラエチレンペンタミン、ジプロピレントリアミン、N-メチル-2,2'-ジアミノジエチルアミン、ポリエチレンジアミン、N-アセチルエチレンジアミン、1,2-ビス(2-アミノエトキシ)エタン等のいずれをも用いることができる。水酸基を有するアミノ化合物としては、2-エタノールアミン、3-プロパノールアミン、6-ヘキサノールアミン、1,3-ジアミノ-2-ヒドロキシプロパン、2-(2-アミノエトキシ)エタノール、2-(2-アミノエチルアミノ)エタノール、グルカミン等の脂肪族アミン及びN-メチル-1,3-ジアミノプロパノール等の誘導体、あるいは、4-アミノフェノール、ジアミノフェノール、アミノヒドロキシピリジン、ジアミノヒドロキシピリジン、ジアミノヒドロキシピラゾール等の芳香族アミン、あるいはセリン、チロシン等のアミノ酸類が用いられる。また、エピクロロヒドリンおよびアミノ化合物、あるいは1,3-ジプロモ-2-ヒドロキシプロパンを反応させることによって水酸基のみを有する化合物あるいはアミノ基のみを有する化合物から水酸基を有するアミノ化合物を合成することも好ましく行われる。また、糖質に水素結合形成可能な基を導入する場合も上記と同様な方法を用いることができる。すなわち、キトサンやグルコサミンのようなアミノ基を有する糖質の場合には、上述したような酸塩化物あるいは酸無水物を反応させることができる。セルロースのようなアミノ基を有

(5)

特開平10-147541

7

きない糖質の場合には、糖質の水酸基をエピクロロヒドリ
リン、トリシクロライドなどを用いて活性化させた後
に、アンモニアやジアミノエタンなどと反応させてアミ
ノ基を導入し、このアミノ基を利用して、糖質にアミド
基を導入することができる。カルボキシル基を有するア
ミノ化合物としては例えば、 β -アラニン、4-アミノ
- α -酪酸、 γ -アミノ- β -ヒドロキシ- α -酪酸、 β -アミノ- α -カプロン酸等を用いることができる。

【0011】さらに、本発明材料がオリゴマあるいはポリ
マの場合には、例えば、酸塩化物基、酸無水物基を有
するオリゴマあるいはポリマに、水素結合形成可能な基
を有する化合物のアミノ基を反応させる方法が好ましく
用いられる。また、アミノ基を有するオリゴマ、ポリ
マ、あるいはアンモニア、ジアミノエタン、1,3-ジア
ミノプロパン、1,3-ジアミノ-2-ヒドロキシプロパ
ン、1,2-ビス(2-アミノエチル)エタン、トリ
ス(2-アミノエチル)アミン、2-(2-アミノエチ
ルアミノ)エタノールなどによりアミノ基を導入したオリ
ゴマ、ポリマに上述したような酸塩化物あるいは酸無
水物を反応させることも好ましい方法である。アミノ
基、酸塩化物基、酸無水物基などの官能基は、必要に応
じてオリゴマ、ポリマに導入することができる。

【0012】さらに、本発明材料がポリアミドの場合に
は、例えばポリカルボン酸とポリアミンを重合させる
方法を用いることができる。また、ポリカルボン酸など
を用いずに、各々の官能基を一つずつ順次導入すること
によって最終的にポリアミドを得る方法も好ましく行わ
れる。また、例えばジシクロヘキシルカルボジイミド等
の縮合剤を反応促進に用いることも可能である。

【0013】上記すべての反応条件は、限定されるもの
ではないが、標準的には、反応温度は例えば0~150
°C、反応時間は例えば0.1~24時間で行われる。また、
反応溶媒は必ずしも必要ではないが、一般的には糖
質の存在下に行われる。使用しうる溶媒としては、メタ
ノール、エタノール、イソプロピルアルコール、 n -ブ
タノール、ヘキサン、アセトン、 N,N -ジメチルホルム
アミド、ジメチルスルホキシド等の脂肪族炭化水素類、
ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類、
ジクロロメタン、クロロホルム、クロロベンゼン等のハ
ロゲン化炭化水素類、ジエチルエーテル、テトラヒドロ
フラン、ジオキサン等のエーテル類等が挙げられる。反
応終了後の反応液は、必要に応じ、ろ過、濃縮などの通
常の処理の後、カラムクロマトグラフィー、再結晶な
どの操作により、精製されることができ、また、水不
溶性の材料の場合、ガラスフィルター等を用いて洗浄す
ることも好ましい方法である。

【0014】本発明材料の中で水不溶性のものは、スー
パー抗原除去カラム、創傷被覆材、スーパー抗原検出あ
るいは産量の測定材料などとして好ましく用いられ
る。その形状としては特に限定はないが、カラムとして

8

用いる場合には、ビーズ、微粒、中空微粒、粉末、ヤーン、
ネット、縞み地、織物等が好ましく、創傷被覆材料
の場合は、織物あるいはフィルム等の形状が好ましく、
また、測定材料の場合には、ビーズ、プレート、チュー
ブ等の形状が好ましい。また、本材料は単独での使用の
みならず、適当な基材にさらに固定化したり、他材料と
混合して一つのカラム、創傷被覆材料あるいは測定材料
として用いることもできる。固定化あるいは混合などの
操作は、前記形状に加工する前に行っても良いし、加工
した後に行っても良い。本発明の材料を用いたカラムを
体外循環用カラムとして用いる場合には、体外に導出し
た血液を直線カラムに通しても良いし、血漿分離膜など
と組み合わせて使用しても良い。

【0015】以下に実施例を用いて詳細に説明を加える
が、発明の内容が実施例に限定されるものではない。

【0016】

【実施例】

実施例1 セルロースビーズへのアミド基の導入および
スーパー抗原除去試験

20 粒径約0.2mmのアミノ化セルロースビーズ(チッソ
(株)製、「アミノセルロフィン」)12ml(沈
降時体積)を50mlの N,N -ジメチルホルムアミド
(以下DMFと略す)中で攪拌し、ガラスフィルターに
よって、ビーズと濾液の分離を行った。この操作を1回
5分間、20回繰り返す。含有水分をDMFと完全に置
換させた。

【0017】このビーズを0.1gの4-クロロベンゾ
イルクロライドを溶解させた100mlのDMF中に徐
々に添加し、攪拌しながら室温で1時間反応させた。そ
の後、ガラスフィルターを用いて、ビーズと濾液とを分
離し、このビーズを50mlのDMF中で5分間攪拌す
ることによって洗浄を行った。この洗浄操作を20回繰
り返し、未反応の塩化4-クロロベンゾイルクロライド
を完全に除去した。次いで、蒸留水による洗浄操作を同
様に行い、DMFを蒸留水と置換することによって、ア
ミド基を有するセルロースビーズを得た。

【0018】このアミド基導入セルロースビーズおよび
コントロールとしての未修飾セルロースビーズを用い
て、4種のスーパー抗原、黄色ブドウ球菌外毒素A(S.
EA)、外毒素B(SEB)、外毒素C(SEC)、及
びトキシックショックシンドロームトキシノー1(TS
ST-1)の吸着除去をウサギ血漿中で行った。スーパ
ー抗原の初期濃度は1ng/mlとし、血漿量10ml
に対して、121°C、20分間の高温滅菌後の上記のセ
ルロースビーズ1mlを添加し、37°Cにおいて80分
間振盪した。80分間反応後のウサギ血漿中の4種のス
ーパー抗原濃度を酵素免疫学的に測定した結果を表1に
示す。この結果が示すように、アミド結合の導入によ
り、セルロースビーズにスーパー抗原吸着能が付与され
た。

(6)

特開平10-147541

10

9

[0019]

* * [表1]

表1 修飾セルロースビーズによるウサギ血清中の4種のスーパー抗原の吸着除去試験

	SEA	SEB	SEC	TSSST-1
修飾セルロース	721 pg/ml	686 pg/ml	639 pg/ml	676 pg/ml
未修飾セルロース	993 pg/ml	1042 pg/ml	957 pg/ml	981 pg/ml

実施例2 アミド基を有するポリスチレン繊維の作製
50重量比の構成成分(46重量比のポリスチレンと4重量比のポリプロピレンの混合物)と50重量比の島成分(ポリプロピレン)とからなるアメリカ特許4,661,260記載のポリプロピレン繊維(厚さ:2.8デニール、長径:18)を50gのN-メチロール- α -クロロアセトアミド、400gのニトロベンゼン、400gの98%硫酸、0.85gのパラホルムアルデヒドの混合溶液と20℃で1時間反応させた。そして、繊維をニトロベンゼンで洗浄し、水中に入れて反応を停止させた。その後、繊維を温水で再び洗浄することによって、クロロアセトアミドメチル化架橋ポリスチレン繊維(以下AMPSt繊維と略す)を得た。

[0020] 表2に示す試薬中(a)、(b)、(d)

~(g)はDMF50mlに(c)はジメチルスルホキシ

表2 AMPSt繊維との反応に用いた試薬

反応生成物	反応に用いた試薬	試薬量
(a)	28%アンモニア水	0.3g
(b)	エタノールアミン	0.3g
(c)	1,3-ジシアミノ-2-ヒドロキシプロパン	0.5g
(d)	エチレンジアミン	0.3g
(e)	N'-メチル-2,2'-ジシアミノジメチルアミン	0.6g
(f)	1,2-ビス(2-アミノエトキシ)エタン	0.8g
(g)	テトラエチレンペンタミン	0.9g

実施例3 アミド基を側鎖に有するポリスチレン繊維によるスーパー抗原の吸着除去

実施例2で作製した修飾ポリスチレン繊維によるスーパー抗原の吸着除去試験を実施例1と同様の方法で行った。SEA, SEB, SEC, TSSST-1の初期濃度は1ng/mlとし、血清量10mlに対して、修飾AMPSt繊維を1g添加し、37℃で60分間振盪した。修飾AMPSt繊維はいずれも、12.1℃、20分間の高圧蒸気滅菌後に用いた。コントロールとしては、クロロアセトアミドメチル基導入前の繊維を用いた。60分間反応後のウサギ血清中の4種のスーパー抗原濃度

※シド(以下DMSOと略す)50mlに溶解した。各々の溶液に、1gのAMPSt繊維(クロロ含量2mmol/1相当)を攪拌しつつ加えた。反応は25℃で8時間行なった。その後、DMF中で反応させたAMPSt繊維はDMF200mlを用いてガラスフィルター上で洗浄した。DMSO中で反応させたものはDMSO200mlを用いて洗浄後、さらにDMF50mlで洗浄することによって溶媒置換した。洗浄後、4-クロロベンゾイルクロライド1gを溶解したDMF50mlの溶液中に各々のAMPSt繊維を加え、25℃で1時間、反応させた。その後、ガラスフィルター上で200mlのDMFおよび200mlの蒸留水により洗浄した。

[0021]

[表2]

を酵素免疫学的に測定した結果を表3に示す。

[0028] この結果が示すように、アミド結合のような水系結合形成可能な基を導入し、さらにアミド基(a)、アミノ基(c)、(d)、(f)、(g)、水酸基(b)(c)のような水系結合形成可能な基を導入することにより、スーパー抗原吸着能が発現することが明らかとなった。また、(g)のようにアミド基導入後もアミンが複数個存在しているものは、高い吸着性能を持つことが明らかとなった。

[0028]

[表3]

(7)

特開平10-147541

12

表3 アミド基を側鎖に有するポリスチレン繊維によるスーパー抗原の吸着除去試験。

修飾AMPSt	SEA	SEB	SEC	TSST-1
コントロール	1012 pg/ml	981 pg/ml	988 pg/ml	1007 pg/ml
(a)	540	562	503	518
(b)	498	478	492	501
(c)	814	682	812	637
(d)	487	455	448	420
(e)	510	478	498	484
(f)	365	352	386	348
(g)	339	376	347	368

実施例4 アミド基および直鎖脂肪酸、脂環族あるいは芳香族置換基を有するポリスチレン繊維の作製およびスーパー抗原除去試験

テトラエチレンベンタミン3gをDMF50mlに溶解した。この溶液に、3.0gのAMPSt繊維（クロロ 20 含量6mmol相当）を撹拌しつつ加えた。反応は25℃で12時間行った。その後AMPSt繊維をガラスフィルター上でDMFを用いて洗浄した。洗浄後、表1の酸塩化物を溶解したDMF50mlの溶液中に1gのAMPSt繊維を加えた。反応は25℃で1時間行った。その後、ガラスフィルター上で200mlのDMF及び500mlの蒸留水により洗浄した。

【0024】作製した8種の修飾AMPSt（繊維によるスーパー抗原の吸着除去試験を実施例3と同様の方法で行った。コントロールとしては、実施例3と同様にクロ

ロアセトアミドメチル繊維入前の繊維を用いた。SEA, SEB, SEC, TSST-1の初期濃度は1ng/mlとし、血漿量10mlに対して、各AMPSt繊維を1g添加し、37℃で60分間攪拌した。いずれのAMPSt繊維も、121℃、20分間の高圧蒸気滅菌後に用いた。60分間反応後のウサギ血漿中の4種のスーパー抗原濃度を酵素免疫学的に測定した結果を表5に示す。

【0025】この結果が示すように、アミド基に続く置換基として、直鎖脂肪酸、脂環族あるいは芳香族置換基のいずれを用いた繊維も、スーパー抗原吸着能を有しているが、芳香族置換基を用いた方が高いスーパー抗原結合能を付与できたことが示された。

【0026】

【表4】

(8)

特開平10-147541

13

14

表4 AMPStと繊維との反応に用いた化合物

反応生成物	反応に用いた酸塩化物	収量率 (g)
(h)	ベンゾイルクロライド	0.7
(i)	p-クロロベンゾイルクロライド	0.9
(j)	シクロヘキサンカルボニルクロライド	0.7

表5 アミド基および直鎖型脂肪酸、脂環族あるいは芳香族置換基を有するポリスチレン繊維によるスーパー抗原の吸着除去試験。

繊維AMPSt	SEA	SEB	SEC	TSS T-1
コントロール	980 pg/ml	992 pg/ml	1003 pg/ml	989 pg/ml
(h)	709	803	711	675
(i)	453	462	418	439
(j)	862	881	785	849

実施例5 修飾ポリスチレン繊維によるスーパー抗原吸着除去試験ー簡便法

実施例4の修飾ポリスチレン繊維 (i) およびコントロールとしてクロロアセトアミドメチル基導入前の繊維を用いてスーパー抗原の簡便法による吸着試験を行った。上記のポリスチレン繊維1gをカラムに充填し、これにスーパー抗原 (TSS T-1) を1mg/ml添加したウサギ血漿10mlを、37℃において60分間循環させた。5分、15分、30分、45分、60分後のウサギ血漿中のTSS T-1濃度を酵素免疫学的に測定した結果を図1に示す。このように水素結合形成可能な基の導入により、体外循環のような流動条件下におけるスーパー抗原吸着能力がポリスチレン繊維に付与された。

【0027】

【発明の効果】本発明により、中性緩衝の高蛋白濃度溶液中においてもスーパー抗原との選択的結合性に優れ、滅菌が可能で、かつ実用である。水素結合形成可能

な基を含む材料が提供された。本発明の材料を用いて、血液、尿などの体液や食品品、飲料物中、医薬品中に存在するスーパー抗原に毒素としての活性を失わせる（解毒）ことができるので、食中毒、敗血症や自己免疫疾患の治療や発症の予防が可能になる。また、この材料の中で水不溶性であるものを用いて、血液、尿などの体液や食品品、飲料物中、医薬品中からスーパー抗原を効率的に除去できるので、これにより、スーパー抗原除去カラムや創傷被覆材料を構成することで、食中毒、敗血症や自己免疫疾患の治療や発症の予防が可能になる。また、スーパー抗原を検出あるいは定量する測定材料として用いることができるので、食中毒、敗血症や自己免疫疾患の診断が可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図1】簡便法によるスーパー抗原吸着除去試験の結果を示す。

(9)

特開平10-147541

【図1】

